

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-215896

(43)Date of publication of application : 18.08.1998

(51)Int.Cl.

C12Q 1/54

G01N 33/66

// G01N 33/493

(21)Application number : 09-038567

(71)Applicant : DAINIPPON PRINTING CO LTD

(22)Date of filing : 07.02.1997

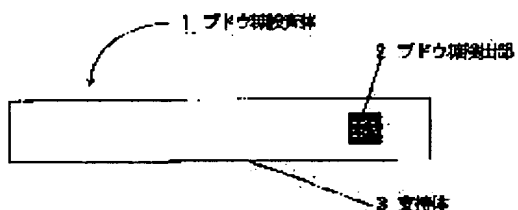
(72)Inventor : SHIBUYA CHIE

(54) INK COMPOSITION FOR DETECTING GLUCOSE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain an ink composition in order to prepare a specimen used for simply and rapidly testing glucose in a solution, especially in urine or a saliva, etc., at the time of chewing by printing.

SOLUTION: A glucose detecting part 2 is formed on a support 3 by printing with an ink comprising a composition for detecting glucose to provide a glucose specimen 1. The ink for detecting the glucose is improved by increasing the amount of a guaiac resin as an oxidizability indicator and using a mixture of a low-molecular weight polyvinylpyrrolidone with a high-molecular weight polyvinylpyrrolidone as a water-soluble polymer and further a powder containing sodium carboxymethyl cellulose as a water retaining carrier. Thereby, the glucose specimen, capable of assuming color good in gradational properties in a high-concentration region and preservable for one and a half years by preservation at ambient temperature is obtained.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision]

BEST AVAILABLE COPY

of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

*** NOTICES ***

**JPO and NCIP are not responsible for any
damages caused by the use of this translation.**

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.**** shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

CLAIMS

[Claim(s)]

[Claim 1] The ink constituent for grape-sugar detection which said oxidizability indicator is guaiac resin, and said water-soluble polymer is the mixture of the polyvinyl pyrrolidone of low molecular weight, and the polyvinyl pyrrolidone of the amount of giant molecules in the ink constituent for grape-sugar detection with which the ink constituent used for the inspection object for grape-sugar detection consists of glucose oxidase, a peroxidase, an oxidizability indicator, a water-soluble polymer, water retention support, PH buffer, a surface active agent, a solvent, and others, and is characterized by for said water retention support to consist of fine particles which contain the calcium salt of a carboxymethyl cellulose at least.

[Claim 2] The mixed rate is an ink constituent for grape-sugar detection according to claim 1 characterized by for said water-soluble polymer being the mixture of the polyvinyl pyrrolidone of the low molecular weight of weight average molecular weight 1,000-5,000, and the polyvinyl pyrrolidone of the amount of giant molecules of weight average molecular weight 1,000,000-1,300,000, for the polyvinyl pyrrolidone of low molecular weight being 30 - 50 % of the weight, and for the polyvinyl pyrrolidone of the amount of giant molecules being 50 - 70 % of the weight, and the content in [all] a constituent being 3 - 7 % of the weight.

[Claim 3] Claim 1 characterized by for the content of the guaiac resin as said oxidizability indicator being 1 - 2 % of the weight, and the content of the carboxymethyl-cellulose calcium salt as said water retention support being 5 - 15 % of the weight, and the ink constituent for grape-sugar detection according to claim 2.

[Claim 4] Claim 1 characterized by being measurable in the range of 5 - 500 mg/dl as a grape-sugar content when the grape-sugar inspection object produced using said ink constituent measures whenever [coloration] using a reflection density meter, claim 2, and the ink constituent for grape-sugar detection according to claim 3.

[Translation done.]

*** NOTICES ***

**JPO and NCIP are not responsible for any
damages caused by the use of this translation.**

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.**** shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of the Invention] This invention relates to the ink constituent for producing the inspection object used in order to inspect simply and quickly grape sugars, such as a solution, especially inside of urine, saliva at the time of digestion, by printing.

[0002]

[Description of the Prior Art] Inspecting among urine the grape sugar contained in body fluid, such as blood and lymph, protein, occult blood, PH, etc., and using for sick discovery, a diagnosis, and a therapy conventionally, is performed. For example, it is indispensable to management in diabetic early detection and a diagnostic list to measure the amount of the grape sugar in urine quickly and simply. Moreover, in order to inspect a digestion function, the constituent for digestion functional tests containing grape sugar is given to a test subject, the constituent for digestion functional tests or saliva is extracted from a test subject after the count digestion of a convention, the amount of shifting-into saliva grape sugars is measured, and the method of judging a digestion function with the measurand of the grape sugar is also performed.

[0003] For example, it considers as the approach of inspecting the amount simply and quickly in the existence list of the grape sugar contained in urine, and the reagent which colors in response to base materials, such as paper, is supported with each component of a liquid, after being immersed in the urine which made this the test paper and extracted it, change of the color of the test paper is observed with the naked eye, and the method of judging the amount is taken. Moreover, when the reagent which colors in response to the paper cup which extracts urine is printed with the grape sugar in the above-mentioned urine etc. and urine is extracted in a paper cup, the printing part colors and there is also a method of judging various components.

[0004] According to an operation of a glucose oxidase, grape sugar react with the oxygen in air, and, finally the conventional grape-sugar checking test piece oxidizes to a gluconic acid and a hydrogen peroxide. This hydrogen peroxide generates the oxygen of a nascent state according to an operation of a peroxidase, and this oxygen is immediately connected with oxidizability indicators, such as O-tolidine, and makes this indicator color. The reagent constituent which consists of a saccharic acid-ized enzyme, a peroxidase, and an oxidizability indicator was dissolved or distributed in the water or water-alcoholic system resin solvent, after infiltrating a filter paper into the obtained liquid, it dried, and the test piece for grape-sugar detection in the body fluid using this principle stuck this filter paper on plastic film, cut it out in proper magnitude, and came as the test paper.

[0005] However, there were the following troubles in this approach.

(a) If the reagent constituent which consists of a saccharic acid-ized enzyme, a peroxidase, and an oxidizability indicator is dissolved or distributed to water or water-alcoholic solvent and a sinking-in solution is adjusted, an enzyme will be unstable, and will tend to deactivate and, moreover, sinking-in liquid will deteriorate quickly. For this reason, after adjustment of sinking-in liquid needs to perform sinking in to the filter paper covering many processes immediately. Moreover, even if it performed sinking in to a filter paper immediately, some enzymes had the problem that will deactivate or a part of sinking-in solution will deteriorate.

(b) As mentioned above, special cautions and skill were required and the sinking-in solution had caused the rise of a manufacturing cost, in order it was difficult to hold the quality of the obtained test piece uniformly and to have secured the trial precision and dependability of a test piece, since the production process was complicated even if not unstable.

[0006] Therefore, a production process is simplified, development of the test piece suitable for mass production method is furthered, a water-alcoholic mixed solution is made to dissolve enzymes in JP,44-25953,B beforehand, an indicator, PH buffer, a giant-molecule binder, water retention support, etc. are mixed to this, the ink constituent which has printing or coating fitness is adjusted, and the method of manufacturing a test piece through printing or coating, and a desiccation process to a base material is proposed in this ink constituent. Moreover, the nonaqueous solvent which hardly dissolves enzymes is made to distribute an enzyme to JP,58-209995,A, and, subsequently the method of dissolving or distributing an indicator, PH buffer, a macromolecule binder, water retention support, etc., adjusting an ink constituent, printing this ink constituent to a base material, and manufacturing a test piece is proposed.

[0007] Moreover, in order to inspect a digestion function, to JP,4-182410,A, the constituent for digestion functional tests containing grape sugar is given to a test subject, the constituent for digestion functional tests,

saliva, etc. are extracted from a test subject after digestion termination, the grape sugar in saliva or the constituent for digestion functional tests are measured to it, and the method of judging a digestion function from the measurement result of grape sugar is proposed.

[0008]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] However, the detection range of grape sugar where many of conventional approaches are quantitative was restricted to low concentration (0 - 100 mg/dl), did not have the gradation nature of coloration at inside concentration to high concentration, and was difficult to measure. Moreover, even if it could measure the high-concentration range to some extent from inside concentration, as for operating procedure, it was complicated that there was the need of keeping the measuring time strictly etc. Moreover, even when the grape-sugar inspection object (test paper) created using the conventional ink constituent for grape-sugar detection was saved in the state of anoxia at a room temperature, the enzyme of glucose oxidase or a peroxidase deactivated, or degradation of an oxidizability indicator arose, and there was a problem in a mothball.

[0009] Therefore, this invention improves an ink presentation and the good coloration of gradation nature was acquired from low concentration for sugar concentration to the high-concentration range (0 - 500 mg/dl) inside according to the concentration of grape sugar. Moreover, after coloration enabled it to maintain early gradation, without discoloring, and has improved the conventional fault for 1 to 2 hours. Furthermore, the inspection object has been improved so that coloration with the sufficient gradation nature even after a mothball may be acquired.

[0010]

[Means for Solving the Problem] In order to solve the above-mentioned trouble, the presentation of the ink for grape-sugar detection was made to be the following. The ink constituent used for the inspection object for grape-sugar detection Glucose oxidase, In the ink constituent for grape-sugar detection which consists of a peroxidase, an oxidizability indicator, a water-soluble polymer, water retention support, PH buffer, a surface active agent, a solvent, and others Said oxidizability indicator is guaiac resin and said water-soluble polymer is the mixture of the polyvinyl pyrrolidone of low molecular weight, and the polyvinyl pyrrolidone of the amount of giant molecules. It considered as the ink constituent for grape-sugar detection characterized by said water retention support consisting of fine particles which contain a carboxymethyl-cellulose calcium salt at least.

[0011] Moreover, the mixed rate was used as the ink constituent for grape-sugar detection whose content in [all] a constituent said water-soluble polymer is the mixture of the polyvinyl pyrrolidone of the low molecular weight of weight average molecular weight 1,000-5,000, and the polyvinyl pyrrolidone of the amount of giant molecules of weight average molecular weight 1,000,000-1,300,000, the polyvinyl pyrrolidone of low molecular weight is 30 - 50 % of the weight, and the polyvinyl pyrrolidone of the amount of giant molecules is 50 - 70 % of the weight, and is 3 - 7 % of the weight.

[0012] Furthermore, the content of the guaiac resin as said oxidizability indicator is 1 - 2 % of the weight, and it considered as the ink constituent for grape-sugar detection whose content of the carboxymethyl-cellulose calcium salt as said water retention support is 5 - 15 % of the weight.

[0013] And when the grape-sugar inspection object produced using said ink constituent measured whenever [coloration] using a reflection density meter, the range of 5 - 500 mg/dl was used as the measurable ink constituent for grape-sugar detection as a grape-sugar content. In addition, the reflection density of a grape-sugar inspection object is JIS. It measured based on Z8120, using the DNP reader by Dai Nippon Printing Co., Ltd. as a reflection density meter. This DNP reader was developed for the density measurement of sugar and the test paper for protein measurement, and can measure the reflection density of a specimen (sample), a reflection factor, and the amount equivalent value of reflected lights.

[0014] namely, as a water-soluble polymer used for the ink constituent for grape-sugar detection The polyvinyl pyrrolidone and molecular weight of low molecular weight of 1,000-5,000 use [molecular weight] the mixture of the polyvinyl pyrrolidone of the amount of giant molecules of 1,000,000-1,300,000. By making [the mixed rate] the polyvinyl pyrrolidone of the amount of giant molecules into 50 - 70 % of the weight for the polyvinyl pyrrolidone of low molecular weight 30 to 50% of the weight, and making the content in [all] a constituent into 3 - 7 % of the weight The enzyme of glucose oxidase or a peroxidase is stable and the coloration in which the inspection object for grape-sugar detection created using this was extended, and the retention period was stabilized till 1.5 in room temperature preservation in the anoxia condition came to be acquired.

[0015] Moreover, by making the content of the guaiac resin as an oxidizability indicator into 1 - 2 % of the weight, and making the content of the carboxymethyl-cellulose calcium salt as water retention support into 5 - 15 % of the weight in the ink constituent for grape-sugar detection, it became the high concentration field of grape sugar, and what has the coloration especially good [gradation nature] in the concentration of 100 - 500 mg/dl, and the range of the grape-sugar concentration 5 - 500 mg/dl became measurable with the inspection object of one sheet.

[0016]

[Embodiment of the Invention] Drawing 1 is the ** type top view of the grape-sugar inspection object created using the ink constituent for grape-sugar detection of this invention. Drawing 2 is the top view of the printed matter when printing to a base material using the ink constituent for grape-sugar detection of this invention, and forming a grape-sugar detecting element. As shown in drawing 1, by printing, the ink constituent for grape-sugar detection of this invention forms the grape-sugar detecting element 2, and uses it for a base material 3 as a grape-sugar inspection object 1. The ink constituent for grape-sugar detection consists of glucose oxidase, a peroxidase, an oxidizability indicator, a water-soluble polymer, water retention support, PH buffer, a surfactant, a solvent, and others. The grape-sugar inspection object (test piece) produced using the ink constituent for grape-sugar detection of this invention measures the amount of grape sugars in body fluid, such as urine, blood, and saliva, based on the following principles.

[0017] (Principle) According to an operation of saccharic acid-ized enzymes, such as glucose oxidase, the grape sugar in body fluid react with the oxygen in air, and, finally oxidize to a gluconic acid and a hydrogen peroxide. The generated hydrogen peroxide generates the oxygen of a nascent state according to an operation of a peroxidase, and the oxygen of this nascent state reacts with oxidizability indicators, such as O-tolidine and guaiac resin, and makes this indicator color immediately. With extent of this coloring (coloration), the existence of the grape sugar in body fluid and its amount are judged.

[0018] Each presentation of the ink constituent for grape-sugar detection of this invention is explained below. Glucose oxidase is used as a saccharic acid-ized enzyme. Glucose oxidase oxidizes the grape sugar in body fluid, finally oxidizes to a gluconic acid and a hydrogen peroxide, and plays an important role in the ink constituent for grape-sugar detection of this invention. When it is used in the state of the refined freeze-drying article and the thing of the potency whose enzyme activity is 100 unit(s)/mg is used, it adds 0.02 to 2% of the weight to the solid content of an ink constituent, and 0.2 - 1.8% of the weight of the content of glucose oxidase is preferably desirable.

[0019] A peroxidase is an enzyme which carries out the catalyst of the oxidation of various matter by making a hydrogen peroxide into a hydrogen acceptor. In the ink constituent for grape-sugar detection of this invention, the role which oxidizes the hydrogen peroxide generated by oxidation of grape sugar as mentioned above, and generates the oxygen of a nascent state is played. The refined freeze-drying article is used like glucose oxidase, and when a potency is 100 unit(s)/mg, 0.02 - 0.5% of the weight of a content is preferably desirable [a peroxidase] 0.002 to 1% of the weight to the solid content of an ink constituent.

[0020] An oxidizability indicator reacts as mentioned above with the oxygen of the nascent state generated by the peroxidase, and colors, and the amount of the grape sugar in body fluid is judged with extent of the coloring. As an oxidizability indicator, although guaiac resin, O-tolidine, benzidines, N-alkylation benzidines, a naphthol derivative, etc. could be used, in this invention, guaiac resin was suitable. The content in the ink constituent for grape-sugar detection is 1 - 3 % of the weight, and is about 1.5 % of the weight preferably. Especially when the mixture of the polyvinyl pyrrolidone of low molecular weight and the polyvinyl pyrrolidone of the amount of giant molecules was used as a water-soluble polymer of the ink constituent for grape-sugar detection, good coloring of the gradation nature according to concentration was obtained to the high-concentration grape-sugar solution (the range of 100 - 500 mg/dl) by carrying out the content of guaiac resin to about 1.5% of the weight, so that it might mention later.

[0021] Although a water-soluble polymer is used as a binder of the ink constituent for grape-sugar detection, as a binder, naturally-occurring polymers, such as celluloses, such as water-soluble polymers, such as nonaqueous solubility resin, such as polyester, an alkyd resin, polystyrene, acrylic resin, an epoxy resin, and a polyvinyl chloride (a copolymer is also included), or polyvinyl alcohol (it considers as Following PVA), and a polyvinyl pyrrolidone (it considers as Following PVP), methyl cellulose, ethyl cellulose, hydroxyethyl cellulose, and a hydroxymethyl cellulose, starch, polysaccharide, gelatin, and casein, etc. are used.

[0022] In this invention, the water-soluble polymer used as a binder acts as a direct or indirect stabilizing agent of enzymes, such as glucose oxidase and a peroxidase, and when the inspection object for grape-sugar

detection (it only considers as a grape-sugar inspection object below) which applied the ink constituent for grape-sugar detection to the base material, and produced it is saved in the state of anoxia at a room temperature, deactivation (potency fall) of an enzyme is prevented. Moreover, a water-soluble polymer is useful also to prevention of degradation of the oxidizability indicator under preservation. Therefore, the retention period of a grape-sugar inspection object can be made to extend by selecting a water-soluble polymer.

[0023] Although the shelf-life was nine months when it saved in the state of anoxia conventionally at a room temperature by selecting the mixture of PVP (polyvinyl pyrrolidone) of low molecular weight, and PVP of the amount of macromolecules from the above thing as a water-soluble polymer as shown below, it was extensible in 1.5. Moreover, a grape-sugar inspection object came to show the good coloration of gradation nature according to grape-sugar concentration by using the mixture of PVP of low molecular weight, and PVP of the amount of giant molecules. Especially, high-concentration (100 - 500 mg/dl) gradation nature became good, and measurement became possible with the grape-sugar inspection object of one sheet from low concentration to inside and high concentration. The coloration which has gradation nature in the high concentration of 100 or more mg/dl with the conventional grape-sugar inspection object was not acquired, but 0 - 100 mg/dl of the measuring range was a limit.

[0024] Furthermore, the weight average molecular weight of the thing of low molecular weight is [PVP of low molecular weight used as a water-soluble polymer] very as effective as 1,000-5,000. Especially, the thing of about 3,000 molecular weight is suitable. Moreover, as for PVP of the amount of macromolecules, conventional PVP whose weight average molecular weight is 1,000,000-1,300,000 is used. The mixed rate of PVP of low molecular weight and PVP of the amount of macromolecules has more preferably that good to which PVP and weight average molecular weight of 3,000 set [weight average molecular weight] the mixed rate to 5 to 7 for PVP of 1,100,000, although PVP of the amount of macromolecules is used for PVP of low molecular weight in 50 - 70% of the weight of the range 30 to 50% of the weight. Furthermore, although the content in the ink constituent for grape-sugar detection of the mixture of PVP is used at 3 - 7 % of the weight, it is 5 - 6% of the weight of the range preferably.

[0025] When water retention support applies the ink constituent for grape-sugar detection to a base material, and uses it as a grape-sugar inspection object and the sample liquid of the measuring object is contacted in the grape-sugar inspection object, the absorptivity of the reagent constituent formed on the base material is improved, contact of sample liquid and a reagent constituent is helped, and the role which stabilizes the color reaction of an indicator is played. Therefore, as water retention support which carries out such an operation, when water (or sample liquid) is contacted, acidity or alkalinity is not shown, it has a bad influence neither on an enzyme nor an oxidizability indicator, but, moreover, the high thing of a whiteness degree is desirable. As such a thing, powder, such as a kaolin, a synthetic silica, glass, a cellulose, a microcrystal cellulose, a calcium carbonate, a magnesium carbonate, aluminum silicate, ion-exchange resin, a calcium salt of a carboxymethyl cellulose, and hydroxypropylcellulose, is used.

[0026] Especially in this invention, the calcium salt (referred to as CMC-calcium below) of a carboxymethyl cellulose was suitable. When sample liquid was contacted, the compatibility of a reagent constituent and water became good, the grape-sugar inspection object using CMC-calcium as water retention support had smooth incorporation of the sample liquid to the inside of a reagent constituent, and coloration was stabilized, and gradation nature's of coloration improved. The content of CMC-calcium in the ink constituent for grape-sugar detection is used in 5 - 15% of the weight of the range, and is about 10 % of the weight preferably.

[0027] As an ink constituent for grape-sugar detection, PH buffer, a surfactant, a solvent, other components, etc. are added other than the above-mentioned component. PH buffer is for stabilizing PH of an ink constituent, and used the buffer of a citric-acid-sodium citrate in this invention. Moreover, although a surfactant is used as a wetting agent of an ink constituent and could use various surfactants, in this invention, the nonionic surfactant ("LEO gold SP-L10 (span20)" by Kao Corp.) was used.

[0028] Moreover, although the nonaqueous solubility solvent was used and various solvents, such as benzene, toluene, a methyl ethyl ketone, ethyl acetate, a butanol, a hexanol, and butyl-cellosolve acetate, could be used as a solvent, in this invention, the partially aromatic solvent of a hexanol and butyl-cellosolve acetate was used. As other components, in order to improve firmness, hydroxypropylcellulose and a crystalline cellulose were used.

[0029]

[Example] Below, based on an example, this invention is explained in detail.

(Example 1) As shown in drawing 2, using a white polystyrene sheet with a thickness of 300 micrometers as a base material 3 of inspection medicine, on this, using the ink of the following presentation, the square of 5mm angle was printed and the grape-sugar detecting element 2 was formed by the screen-stencil method. As the obtained printed matter 4 was cut out in the shape of a stick after 70-degree-C 40-second desiccation and was shown in drawing 1, it considered as the grape-sugar inspection object 1.

[0030]

Grape-sugar checking ink constituent (A)

(1) Oxidizability indicator (guaiac resin) 1.6 % of the weight (2) Water-soluble polymer 5.5 % of the weight (PVP of molecular weight 3000 and 1,100,000 is mixed by 5 to 7)

(3) Water retention support (CMC-calcium) 10.0 % of the weight (4) Glucose oxidase 0.8 % of the weight

(5) Peroxidase 0.4 % of the weight (6) PH buffer (citric-acid-citric-acid Na) 2.8 % of the weight (7)

Nonaqueous solubility polymer 0.0 (8) Surfactant (span20) 1.0 % of the weight (9) Solvent (a hexanol, butyl Cellosolve) -- 46.4 % of the weight (10) -- in addition to this -- 31.5 % of the weight (6.3 % of the weight of hydroxypropylcellulose and 25.2 % of the weight of crystalline celluloses are included as fine particles)

[0031] It was immersed in the urine containing the grape sugar of a known amount using the above-mentioned grape-sugar inspection object 1, and the coloration condition of an inspection object over grape-sugar concentration was measured. According to grape-sugar concentration, coloration of the above-mentioned grape-sugar inspection object 1 immersed in the urine containing grape sugar was carried out to deep blue from light blue. A reflection density meter (the "DNP reader" by Dai Nippon Printing Co., Ltd.) is used for the coloration concentration of this grape-sugar inspection object 1 that carried out coloration blue, and it is JIS. It is based on Z8120. As a result of measuring the reflection density (OD) in the wavelength of 610nm and plotting the reflection density (OD) of the grape-sugar inspection object 1 to grape-sugar concentration (logarithmic scale), as shown in drawing 3, reflection density (OD) changed linearly in the range of the grape-sugar concentration 5 - 500 mg/dl.

[0032] That is, drawing 3 measures the reflection density (OD) of the inspection object which was immersed and carried out coloration of the 5 inspection objects of the grape-sugar inspection object separately created to the urine of each concentration containing 5, 10, 20, and 50,100,200,300,500 mg/dl as a grape-sugar content, plots the average value of 5 inspection objects of the reflection density (OD) to grape-sugar concentration, and shows the variation range of the reflection density (OD) of 5 inspection objects to coincidence. Consequently, as shown in drawing 3, the coloration condition of the grape-sugar inspection object of this invention was the range of the grape-sugar concentration 5 in urine - 500 mg/dl, it changed linearly and it was checked that repeatability is also very good.

[0033] Moreover, in order to measure the grape-sugar concentration in urine quickly from the coloration condition of the above-mentioned grape-sugar inspection object, the approach of measuring by colorimetry with a standard color was adopted. First, the standard colorimetry plate used as a standard color was created as follows. The coloration condition of the above-mentioned inspection object which carried out coloration by each concentration of grape sugar was taken in the photograph, and the same color as the inspection object which carried out coloration to the polystyrene plate of white with a thickness of 300 micrometers by each concentration of grape sugar was printed based on the color of this photograph. The reflection density (OD) of the printed polystyrene plate is measured, and it plots to the grape-sugar concentration in urine as mentioned above.

[0034] Furthermore, in order to make it the reflection density and grape-sugar concentration of a printing plate become proportionality completely, various things which changed the printing concentration of a polystyrene plate are created, and as reflection density is measured like the above and it is shown in drawing 4, it plots. What has reflection density (OD) in grape-sugar concentration and proportionality (reflection density is plotted on a straight line and it is the thing of - mark) is selected from these printing plates, and it considers as the standard colorimetry plate in each concentration (5, 10, 20, 50,100,200,300,500 mg/dl). Furthermore, various creation of the colorimetry plate of the neutral colors of this standard colorimetry plate is carried out by printing, and that reflection density is measured, and like the above, the colorimetry plate corresponding to each grape-sugar concentration in drawing 4 is selected, and it considers as the colorimetry plate in that grape-sugar concentration.

[0035] OD value when measuring the reflection density (OD) of the above-mentioned standard colorimetry plate is doubled ten, and it considers as the standard colorimetry number to each grape-sugar concentration

of a standard colorimetry plate, and when this is plotted to grape-sugar concentration, it comes to be shown in drawing 5. If the standard colorimetry number and grape-sugar concentration of a standard colorimetry plate which were created as mentioned above are shown by comparison, it will become as it is shown in Table 1. Hereafter, when measuring the grape-sugar concentration in urine by colorimetry using the grape-sugar inspection object by this invention, it decided to express reflection density as a standard colorimetry number.

[0036]

[Table 1]

尿中のブドウ糖濃度 〔mg／d l〕	標準比色番号
5	2. 0
10	4. 5
15	5. 5
20	6. 5
30	7. 5
40	8. 5
50	9. 5
100	11. 5
200	14. 0
300	15. 0
400	16. 0
500	17. 0

[0037] It was immersed into urine like the above-mentioned after one-month preservation by one month, 40 degrees C, and 75%RH, coloration of the above-mentioned grape-sugar inspection object was carried out to the room temperature, and the coloration concentration was measured. A measurement result is as being shown in Table 2. The measurement result of the inspection object in early stages of [above-mentioned] manufacture was also shown in Table 2 together for the comparison. Coloration concentration was expressed as the above-mentioned standard colorimetry number. As shown in Table 2, the coloration condition of an inspection object was not different from the inspection object in early stages of manufacture to a room temperature at all after one-month preservation with one month, 40 degrees C, and 75%RH. That is, neither degradation nor deactivation having produced the reagent constituent of a grape-sugar inspection object, but having maintained the early engine performance during the retention period, is shown.

[0038]

[Table 2]

尿中のブドウ糖濃度 〔mg／d l〕	実施例 1 における検査体の呈色後の反射濃度 〔数字は標準比色番号〕		
	製造初期	室温 1 月保存後	40℃75%RH 1 月保存後
15	5. 5	5. 5	5. 5
50	9. 5	9. 5	9. 5
100	11. 5	11. 5	11. 5
200	14. 0	14. 0	14. 0
300	15. 0	15. 0	15. 0
500	17. 0	17. 0	17. 0

[0039] (Example 2) Using the grape-sugar inspection object 1 created in the example 1, it is the following, and the grape-sugar concentration in the saliva after a digestion ability trial was made and measured. Known amount addition of the grape sugar is carried out at a digestion ability checking constituent, and give a test subject 4g of the digestion ability checking constituent, make this digest 20 times (ten digestion rates / 8 seconds), and a digestion ability checking constituent and saliva are made to breathe out in a paper cup after digestion termination, and with 10 moreml purified water, ** breathes out opening to **, makes this breathe out in said paper cup, and it is made together with a digestion ability checking constituent or saliva. Into this mixed liquor, it is immersed, coloration of the grape-sugar inspection object 1 created in the example 1 was carried out, it took out after 3 seconds, excessive saliva and a digestion ability checking constituent were wiped off, and the grape-sugar concentration which shifted into saliva the grape-sugar inspection object which carried out coloration blue as compared with said standard colorimetry plate was computed. Moreover, the same trial as the above was performed using the grape-sugar inspection object which saved during July the grape-sugar inspection object created in the example 1 on condition that RH a room temperature, 40 degrees C, and 75% in the state of anoxia.

[0040] A test result is as being shown in Table 3. As the result of Table 3 showed, it turned out that coloration concentration changes corresponding to grape-sugar concentration, and the grape-sugar inspection object of this invention is applicable to a digestion trial also to the suspension for a digestion trial. Moreover, also after saving the grape-sugar inspection object of this invention for seven months at a room temperature, the coloration condition was good and it turned out that there is no change in the engine performance. Furthermore, even when saved for seven months on condition that 40 degrees C and 75%RH, in the range of the grape-sugar concentration 5 - 200 mg/dl, the coloration condition was good. However, it turned out that the coloration concentration falls from an early thing, and the engine performance is falling slightly to the high concentration range of grape sugar (300 - 500 mg/dl). When saved on condition that 40 degrees C and 75%RH, it is said that it corresponds by the room temperature preservation [about 3 times], and 40 degrees C, 75%RH, and seven-month preservation correspond in about 21 months (one year, nine months) of room temperature preservation. Therefore, if the grape-sugar inspection object of this invention is saved in the state of anoxia at a room temperature, it can predict that it can save for at least 1.5 years, without reducing the engine performance.

[0041]

[Table 3]

尿中のブドウ糖濃度 (mg/dl)	実施例2における検査体の呈色後の反射濃度 (数字は標準比色番号)		
	製造初期	室温7月保存後	40℃75%RH 7月保存後
15	5.0	5.0	5.0
50	9.0	9.0	9.0
100	11.0	11.0	11.0
200	13.0	13.0	13.0
300	14.5	14.5	14.0
500	16.0	16.0	15.0

[0042] (Example of a comparison) As an example of a comparison, ink constituents, such as what does not use PVP of low molecular weight as a water-soluble polymer, a thing which does not use CMC-calcium as absorptivity fine particles, or a thing which lessened the amount of guaiac resin as an oxidizability indicator, were created, and the grape-sugar inspection object was created like the example 1.

[0043] (Example 1 of a comparison) The ink of the following presentation was used and the inspection object for grape-sugar detection was created like the example 1.

Grape-sugar checking ink constituent (B)

(1) An oxidizability indicator (guaiac resin) 1.0 Weight % (2) A water-soluble polymer (PVP of molecular weight 1,100,000) 2.6 Weight % (3) Water retention support (CMC-calcium) 0.0 (4) Glucose oxidase

(GOD) 0.8 Weight % (5) Peroxidase (POD) 0.4 Weight % (6) PH buffer (citric-acid-citric-acid Na) 2.8 Weight % (7) Nonaqueous solubility polymer 0.5 Weight % (8) Surfactant (span20) 1.0 Weight % (9) Solvent (a hexanol, butyl acetate) 59.4 Weight % (10) In addition to this 31.4 Weight % (6.3 % of the weight of hydroxypropylcellulose and 25.1 % of the weight of crystalline celluloses are included as fine particles)

[0044] (Example 2 of a comparison) The ink of the following presentation was used and the inspection object for grape-sugar detection was created like the example 1.

Grape-sugar checking ink constituent (C)

(1) An oxidizability indicator (guaiac resin) 1.6 % of the weight (2) A water-soluble polymer (PVP of molecular weight 1,100,000) 2.7 % of the weight (3) Water retention support (CMC-calcium) 0.0 (4) Glucose oxidase 0.8 % of the weight (5) Peroxidase 0.4 % of the weight (6) PH buffer (citric-acid-citric-acid Na) 2.8 % of the weight (7) Nonaqueous solubility polymer 0.5 (8) 1.0 % of the weight (span20) (9) of surface active agents Solvent (a hexanol, butyl acetate) 48.9 % of the weight (10) in addition to this 41.3 % of the weight (8.3 % of the weight of hydroxypropylcellulose and 33.0 % of the weight of crystalline celluloses are included as fine particles)

[0045] (Example 3 of a comparison) The ink of the following presentation was used and the inspection object for grape-sugar detection was created like the example 1.

Grape-sugar checking ink constituent (D)

(1) Oxidizability indicator (guaiac resin) 1.6 Weight % (2) Water-soluble polymer 5.5 Weight % (PVP of molecular weight 3000 and 1,100,000 is mixed by 5 to 7)

(3) Water retention support 0.0 (4) Glucose oxidase 0.8 Weight % (5) Peroxidase 0.4 Weight % (6) PH buffer (citric-acid-citric-acid Na) 2.8 Weight % (7) Nonaqueous solubility polymer 0.0 (8) Surfactant (span20) 1.00 % of the weight (9) Solvent (a hexanol, butyl acetate) 46.6 % of the weight (10) In addition to this 41.3 % of the weight (8.3 % of the weight of hydroxypropylcellulose and 33.0 % of the weight of crystalline celluloses are included as fine particles)

[0046] The grape-sugar inspection object created in the example of a comparison was immersed in the urine containing the grape sugar of a known amount like the example 1, and the coloration condition of an inspection object over grape-sugar concentration was measured. Moreover, it was immersed into urine after one-month preservation by the room temperature and 40 degrees C, and 75%RH like the example 1, coloration of the grape-sugar inspection object created in the example of a comparison was carried out, and the concentration was measured. A result is as being shown in Table 4. As shown in Table 4, although the grape-sugar inspection object created in the example 1 of a comparison showed coloration with a certain amount of [the range of the grape-sugar concentration 0 - 100 mg/dl] sufficient gradation nature, by 100 or more mg/dl, blue concentration of an inspection object was hardly able to change and was not able to measure the concentration of 100 or more mg/dl. Moreover, the grape-sugar inspection object created in the example 1 of a comparison deteriorated during preservation, and coloration concentration fell.

[0047] that there are few amounts of the guaiac resin of an oxidizability indicator as compared with an example 1 although the example 1 of a comparison is the same as the conventional ink constituent for grape-sugar detection, that PVP of low molecular weight is not contained only by PVP of the amount of macromolecules as a water-soluble polymer, and the thing that CMC-calcium does not contain as water retention support and that are not -- it comes out. As the ink constituent for grape-sugar detection of this invention was shown in an example 1, the engine performance of a grape-sugar inspection object was sharply improvable by increasing the amount of guaiac resin about 1.5 times as an oxidizability indicator, adding PVP of low molecular weight as a water-soluble polymer, adding CMC-calcium as water retention support further, and improving the conventional ink constituent. That is, with the conventional inspection object, measurement also of the range of 100 which was not able to be measured - 500 mg/dl was attained with the inspection object of one sheet. Moreover, even if there was little degradation under preservation and it saved for one month by 40 degrees C and 75%RH, the completely same coloration as the thing in early stages of manufacture was shown.

[0048] that, as for the example 2 of a comparison, PVP of low molecular weight is not contained only by PVP of the amount of macromolecules as a water-soluble polymer as compared with an example 1, and the thing which CMC-calcium does not contain as water retention support and which are not -- it comes out. And the grape-sugar inspection object created in the example 2 of a comparison is that shelf life is not good as compared with the thing of an example. The shelf life of a grape-sugar inspection object was able to be

raised by adding PVP of low molecular weight other than PVP of the amount of macromolecules as a water-soluble polymer, and adding CMC-calcium as water retention support so that an example 1 might be compared with the example 2 of a comparison and it might be known.

[0049] the thing for which CMC-calcium does not contain the example 3 of a comparison as water retention support as compared with an example 1 and which are not -- it comes out. As shown in Table 3 in the case of the example 3 of a comparison, although the range of the grape-sugar concentration 100 - 500 mg/dl is also measurable and shelf life had also brought a result which is not bad, nonuniformity is in a coloration condition and coloration with sufficient stability was not acquired. From the above thing, by adding CMC-calcium as water retention support showed that coloration was stabilized.

[0050]

[Table 4]

尿中のブドウ糖濃度 [mg/dl]		比較例における検査体の呈色後の反射濃度 [数字は標準比色表番号]		
		製造初期	室温 1 月 保存後	40℃75%RH 1 月 保存後
比較例 1	15	5.0	5.0	3.0
	50	8.0	7.0	4.0
	100	10.0	8.0	5.0
	200	10.0	8.0	6.5
	300	10.0	8.0	6.0
	500	10.0	8.0	6.0
比較例 2	15	5.0	4.0	4.0
	50	9.0	8.0	7.5
	100	11.0	10.0	8.5
	200	12.0	10.0	8.5
	300	13.0	10.0	8.5
	500	13.5	10.0	8.5
比較例 3	15	5.0	5.0	5.0
	50	9.0	8.5	8.0
	100	11.0	10.0	10.0
	200	13.0	13.0	14.0
	300	15.0	14.0	14.5
	500	16.0	15.0	15.0

In the example 3 of a notes comparison, there is much coloration nonuniformity and the stability of coloration is not good.

[0051] (Example 4 of a comparison) The grape-sugar concentration in the saliva after a digestion ability trial was measured like the example 2 using the grape-sugar inspection object 1 created in the example 3 of a comparison. Moreover, the grape-sugar concentration in the saliva after a digestion ability trial was measured like the example 2 using the grape-sugar inspection object which saved during July the grape-sugar inspection object created in the example 3 of a comparison on condition that RH a room temperature, 40 degrees C, and 75% in the state of anoxia.

[0052] A test result is as being shown in Table 5. Although there is no difference in the coloration condition with what [big] saved the grape-sugar inspection object which CMC-calcium does not contain as water retention support for seven months at the room temperature and the early engine performance is held so that the result of Table 5 may show When saved for seven months on condition that 40 degrees C and 75%RH, it turned out that the first stage carries out [the coloration concentration] a thing twist remarkable fall, and a

mothball is impossible to the high concentration range of grape sugar (300 - 500 mg/dl).

[0053]

[Table 5]

尿中のブドウ糖濃度 〔mg/dl〕	比較例 4 における検査体の呈色後の反射濃度 〔数字は標準比色番号〕		
	製造初期	室温 7 月保存後	40℃75%RH 7 月保存後
15	5.0	5.0	5.0
50	9.0	9.0	9.0
100	11.0	11.0	11.0
200	13.0	13.0	12.0
300	14.5	14.5	12.0
500	16.0	16.0	12.0

[0054]

[Effect of the Invention] Conventionally, the grape-sugar inspection object created using the ink constituent for grape-sugar detection of this invention becomes measurable, and the high-concentration range (100 - 500 mg/dl) where measurement was made very difficult is also the inspection object of one sheet, and can measure it from low concentration (5 - 100 mg/dl) to high concentration inside quickly and easily. Moreover, the grape-sugar inspection object of this invention can also measure the grape-sugar concentration which shifted to saliva after digesting a digestion ability inspection constituent, and can expect to be available as an inspection object of various kinds of grape-sugar concentration. Since what the grape-sugar inspection object of this invention contacted the suspension of urine or others, and carried out coloration is stable and it does not discolor, it becomes unnecessary to observe the measuring time strictly, and measurement becomes very easy. Furthermore, there is little degradation under preservation and, in room temperature preservation, the shelf-life is extensible in the anoxia condition in 1.5. Therefore, mass production method becomes possible and cost reduction can be planned.

[Translation done.]

*** NOTICES ***

JPO and NCIP are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

DESCRIPTION OF DRAWINGS

[Brief Description of the Drawings]

[Drawing 1] It is the ** type top view of the grape-sugar inspection object in which the grape-sugar detecting element was formed.

[Drawing 2] It is the top view of the printed matter when forming a grape-sugar detecting element in a base material by printing using the ink for grape-sugar detection of this invention.

[Drawing 3] It is drawing having shown the relation of the reflection density (OD) of the grape-sugar concentration and the inspection object when measuring the grape sugar of the known concentration in urine using the grape-sugar inspection object of this invention.

[Drawing 4] It is an explanatory view when creating the standard colorimetry plate to the various

grape-sugar concentration in urine, and is drawing which plotted the reflection density of a standard colorimetry plate to various grape-sugar concentration.

[Drawing 5] It is drawing having shown the reflection density (OD) and the standard colorimetry number of a standard colorimetry plate to the various grape-sugar concentration in urine.

[Description of Notations]

- 1 Grape-Sugar Inspection Object
- 2 Grape-Sugar Detecting Element
- 3 Base Material
- 4 Printed Matter

[Translation done.]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-215896

(43) 公開日 平成10年(1998) 8月18日

(51) Int. Cl.⁶

識別記号

F I

C 1 2 Q 1/54

C 1 2 Q 1/54

G 0 1 N 33/66

G 0 1 N 33/66

C

// G 0 1 N 33/493

33/493

A

審査請求 未請求 請求項の数 4 F D (全 11 頁)

(21) 出願番号 特願平9-38567

(22) 出願日 平成9年(1997) 2月7日

(71) 出願人 000002897

大日本印刷株式会社

東京都新宿区市谷加賀町一丁目1番1号

(72) 発明者 渋谷 千恵

東京都新宿区市谷加賀町一丁目1番1号

大日本印刷株式会社内

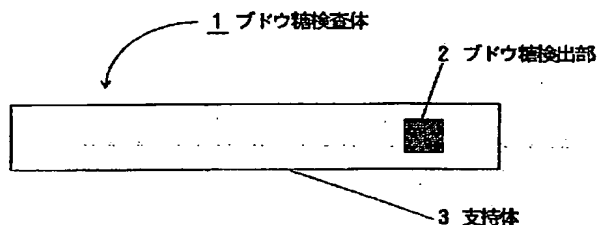
(74) 代理人 弁理士 小西 淳美

(54) 【発明の名称】 ブドウ糖検出用インキ組成物

(57) 【要約】

【課題】 従来のブドウ糖検査体は、低濃度(0~100mg/dl)では階調性のよい呈色を示すが、高濃度(100~500mg/dl)の測定は測定時間を厳守する必要がある等操作が煩雑であると共に、保存中に性能が低下し長期保存は不可能である。

【解決手段】 ブドウ糖検出用組成物からなるインキを用いて、支持体3に印刷によりブドウ糖検出部2を形成してブドウ糖検査体1とする。このブドウ糖検出用インキを、被酸化性指示薬としてグアヤク脂の量を増加し、水溶性ポリマーとして低分子量のポリビニルピロリドンと高分子量のポリビニルピロリドンの混合物を用い、保水性担体としてカルボキシメチルセルロースカルシウム塩を含む粉体を用いることにより改良し、高濃度領域でも階調性のよい呈色を示し、且つ室温保存で1年半は保存できるブドウ糖検査体を得た。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 ブドウ糖検出用検査体に使用されるインキ組成物が、グルコースオキシダーゼ、ペルオキシダーゼ、被酸化性指示薬、水溶性ポリマー、保水性担体、PH緩衝剤、界面活性剤、溶媒及びその他からなるブドウ糖検出用インキ組成物において、前記被酸化性指示薬がグアヤク脂であり、前記水溶性ポリマーが、低分子量のポリビニルピロリドンと高分子量のポリビニルピロリドンの混合物であり、前記保水性担体が少なくともカルボキシメチルセルロースのカルシウム塩を含む粉体からなることを特徴とするブドウ糖検出用インキ組成物。

【請求項2】 前記水溶性ポリマーが、重量平均分子量1,000～5,000の低分子量のポリビニルピロリドンと重量平均分子量1,000,000～1,300,000の高分子量のポリビニルピロリドンの混合物であり、その混合割合は、低分子量のポリビニルピロリドンが30～50重量%であり、高分子量のポリビニルピロリドンが50～70重量%であり、且つ全組成物中の含有量が3～7重量%であることを特徴とする請求項1に記載のブドウ糖検出用インキ組成物。

【請求項3】 前記被酸化性指示薬としてのグアヤク脂の含有量が1～2重量%であり、前記保水性担体としてのカルボキシメチルセルロースカルシウム塩の含有量が5～15重量%であることを特徴とする請求項1及び請求項2に記載のブドウ糖検出用インキ組成物。

【請求項4】 前記インキ組成物を用いて作製したブドウ糖検査体が、反射濃度計を用いてその呈色度を測定した場合、ブドウ糖含有量として5～500mg/dlの範囲を測定可能であることを特徴とする請求項1、請求項2及び請求項3に記載のブドウ糖検出用インキ組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、溶液、特に尿中や咀嚼時の唾液等のブドウ糖を簡単且つ迅速に検査するために使用する検査体を、印刷によって作製するためのインキ組成物に関するものである。

【0002】

【従来の技術】従来、尿中、血液、リンパ液等の体液中に含まれるブドウ糖、蛋白質、潜血、PH等を検査して、病気の発見、診断、治療に利用することが行われている。例えば、尿中のブドウ糖の量を迅速に且つ簡単に測定することは、糖尿病の早期発見、診断並びに管理に必要不可欠である。また、咀嚼機能を検査するために、被験者にブドウ糖を含有する咀嚼機能検査用組成物を与え、規定回数咀嚼後に、被験者から咀嚼機能検査用組成物又は唾液を採取し、唾液中に移行したのブドウ糖量を測定し、そのブドウ糖の測定量により咀嚼機能を判定する方法も行われている。

【0003】例えば、尿中に含まれるブドウ糖の有無並

びにその量を簡単に且つ迅速に検査する方法として、紙等の支持体に、液体の各成分と反応して発色する試薬を担持し、これを試験紙として、採取した尿に浸漬した後、試験紙の色の変化を肉眼で観察して、その量を判定する方法が取られている。また、尿を採取する紙カップに上記尿中のブドウ糖等と反応して発色する試薬を印刷しておき、紙カップに尿を採取したとき、その印刷部分が発色して、各種成分を判定する方法もある。

【0004】従来のブドウ糖検査用試験片は、ブドウ糖酸化酵素の作用により、ブドウ糖は空気中の酸素と反応して最終的にグルコン酸と過酸化水素に酸化される。この過酸化水素はペルオキシダーゼの作用により発生期の酸素を生成し、この酸素は直ちにオートリジン等の被酸化性指示薬と結びつき、該指示薬を発色させる。この原理を利用した体液中のブドウ糖検出用試験片は、糖酸化酵素、ペルオキシダーゼ、被酸化性指示薬からなる試薬組成物を水又は水-アルコール系樹脂溶媒中に溶解又は分散させ、得られた液に濾紙を含浸させた後乾燥し、この濾紙をプラスチックフィルムに貼着し、適宜な大きさに裁断して試験紙としてきた。

【0005】しかし、この方法には、以下のような問題点があった。

(a) 糖酸化酵素、ペルオキシダーゼ、被酸化性指示薬からなる試薬組成物を水又は水-アルコール系溶媒に溶解或いは分散して含浸溶液を調整すると、酵素は不安定で失活し易く、しかも含浸液は急速に変質してしまう。このため、含浸液の調整後は直ちに多工程にわたる濾紙への含浸を行う必要がある。また、直ちに濾紙への含浸を行っても酵素の一部は失活したり、含浸溶液が一部変質してしまうという問題があった。

(b) 上記のように、含浸溶液は不安定でなくとも製造工程が複雑であるため、得られた試験片の品質を一定に保持することが難しく、試験片の試験精度及び信頼性を確保するには、特別な注意と熟練が要求され、製造コストの上昇を招いていた。

【0006】そのため、製造工程を簡素化し、大量生産に適した試験片の開発が進められ、特公昭44-25953号公報には、水-アルコール混合溶液に酵素類を予め溶解させ、これに指示薬、PH緩衝剤、高分子結合剤及び保水性担体等を混合して、印刷又はコーティング適性を有するインキ組成物を調整し、このインキ組成物を支持体に印刷又はコーティング、及び乾燥工程を経て試験片を製造する方法が提案されている。また、特開昭58-209995号公報には、酵素類を殆ど溶解しない非水系溶媒に酵素を分散させ、次いで、指示薬、PH緩衝剤、高分子結合剤及び保水性担体等を溶解或いは分散させてインキ組成物を調整し、このインキ組成物を支持体に印刷して試験片を製造する方法が提案されている。

【0007】また、特開平4-182410には、咀嚼機能を検査するために、ブドウ糖を含有する咀嚼機能検

査用組成物を被験者に与えて、咀嚼終了後、被験者から咀嚼機能検査用組成物及び唾液等を採取し、唾液又は咀嚼機能検査用組成物中のブドウ糖を測定し、ブドウ糖の測定結果から咀嚼機能を判定する方法が提案されている。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】しかし、従来の方法の多くは、ブドウ糖の定量的な検出範囲は低濃度(0~100mg/dl)に限られており、中濃度から高濃度では呈色の階調性がなく、測定が困難であった。また、中濃度から高濃度の範囲をある程度測定できても、測定時間を厳密に守る必要がある等、操作手順が煩雑であった。また、従来のブドウ糖検出用インキ組成物を用いて作成したブドウ糖検査体(試験紙)は、無酸素状態で室温に保存した場合でも、グルコースオキシダーゼやペルオキシダーゼの酵素が失活したり、被酸化性指示薬の劣化が生じて、長期保存には問題があった。

【0009】そのため、本発明は、インキ組成を改良して、糖濃度が低濃度から中、高濃度の範囲(0~500mg/dl)まで、ブドウ糖の濃度に応じて階調性のよい呈色が得られるようにした。また、呈色後は1~2時間は変色せずに初期の階調を維持できるようにし、従来の欠点を改善した。更に、検査体を長期保存後も階調性のよい呈色が得られるように改善した。

【0010】

【課題を解決するための手段】上記問題点を解決するために、ブドウ糖検出用インキの組成を以下のようにした。ブドウ糖検出用検査体に使用されるインキ組成物が、グルコースオキシダーゼ、ペルオキシダーゼ、被酸化性指示薬、水溶性ポリマー、保水性担体、PH緩衝剤、界面活性剤、溶媒及びその他からなるブドウ糖検出用インキ組成物において、前記被酸化性指示薬がグアヤク脂であり、前記水溶性ポリマーが、低分子量のポリビニルピロリドンと高分子量のポリビニルピロリドンの混合物であり、前記保水性担体が少なくともカルボキシメチルセルロースカルシウム塩を含有する粉体からなることを特徴とするブドウ糖検出用インキ組成物とした。

【0011】また、前記水溶性ポリマーが、重量平均分子量1,000~5,000の低分子量のポリビニルピロリドンと重量平均分子量1,000,000~1,300,000の高分子量のポリビニルピロリドンの混合物であり、その混合割合は、低分子量のポリビニルピロリドンが30~50重量%であり、高分子量のポリビニルピロリドンが50~70重量%であり、且つ全組成物中の含有量が3~7重量%であるブドウ糖検出用インキ組成物とした。

【0012】更に、前記被酸化性指示薬としてのグアヤク脂の含有量が1~2重量%であり、前記保水性担体としてのカルボキシメチルセルロースカルシウム塩の含有量が5~15重量%であるブドウ糖検出用インキ組成物

とした。

【0013】そして、前記インキ組成物を用いて作製したブドウ糖検査体が、反射濃度計を用いてその呈色度を測定した場合、ブドウ糖含有量として5~500mg/dlの範囲を測定可能であるブドウ糖検出用インキ組成物とした。尚、ブドウ糖検査体の反射濃度は、JIS Z8120に準拠して、反射濃度計として大日本印刷(株)製のDNPリーダーを用いて測定した。このDNPリーダーは、糖及び蛋白質測定用の試験紙の濃度測定用に開発されたもので、検体(試料)の反射濃度、反射率、反射光量相当値を測定できるものである。

【0014】即ち、ブドウ糖検出用インキ組成物に使用される水溶性ポリマーとして、分子量が1,000~5,000の低分子量のポリビニルピロリドンと分子量が1,000,000~1,300,000の高分子量のポリビニルピロリドンの混合物を使用し、その混合割合を、低分子量のポリビニルピロリドンを30~50重量%、高分子量のポリビニルピロリドンを50~70重量%とし、且つ全組成物中の含有量を3~7重量%とすることにより、グルコースオキシダーゼやペルオキシダーゼの酵素が安定化し、これを用いて作成したブドウ糖検出用検査体は、保存期間が延長され、無酸素状態で室温保存の場合、1.5年まで安定した呈色が得られるようになった。

【0015】また、ブドウ糖検出用インキ組成物の中で、被酸化性指示薬としてのグアヤク脂の含有量を1~2重量%とし、保水性担体としてのカルボキシメチルセルロースカルシウム塩の含有量を5~15重量%とすることにより、ブドウ糖の高濃度領域、特に100~500mg/dlの濃度における呈色が階調性のよいものとなり、一枚の検査体でブドウ糖濃度5~500mg/dlの範囲が測定可能となった。

【0016】

【発明の実施の形態】図1は本発明のブドウ糖検出用インキ組成物を用いて作成したブドウ糖検査体の模式平面図である。図2は本発明のブドウ糖検出用インキ組成物を用いて支持体に印刷して、ブドウ糖検出部を形成したときの印刷物の平面図である。本発明のブドウ糖検出用インキ組成物は、図1に示すように、支持体3に印刷によってブドウ糖検出部2を形成して、ブドウ糖検査体1として使用するものである。そのブドウ糖検出用インキ組成物は、グルコースオキシダーゼ、ペルオキシダーゼ、被酸化性指示薬、水溶性ポリマー、保水性担体、PH緩衝剤、界面活性剤、溶媒及びその他から構成される。本発明のブドウ糖検出用インキ組成物を用いて作製したブドウ糖検査体(試験片)は、以下の原理に基づいて、尿、血液、唾液等の体液中のブドウ糖量を測定する。

【0017】(原理)体液中のブドウ糖は、グルコースオキシダーゼ等の糖酸化酵素の作用によって、空気中の

酵素と反応して最終的にグルコン酸と過酸化水素に酸化される。生成した過酸化水素は、ペルオキシダーゼの作用により発生期の酸素を生成し、この発生期の酸素は直ちに、オートリジン、グアヤク脂等の被酸化性指示薬と反応して該指示薬を発色させる。この発色（呈色）の程度により、体液中のブドウ糖の有無及びその量を判定する。

【0018】以下に本発明のブドウ糖検出用インキ組成物の各組成について説明する。糖酸化酵素としてはグルコースオキシダーゼが使用される。グルコースオキシダーゼは、体液中のブドウ糖を酸化して最終的にグルコン酸と過酸化水素に酸化するものであり、本発明のブドウ糖検出用インキ組成物の中では重要な役割を果たすものである。グルコースオキシダーゼは精製された凍結乾燥品の状態で用いられ、酵素活性が100 unit/mgの力価のものが使用される場合は、インキ組成物の固形分に対して0.02～2重量%添加し、好ましくは0.2～1.8重量%の含有量が望ましい。

【0019】ペルオキシダーゼは、過酸化水素を水素受容体として種々の物質の酸化を触媒する酵素である。本発明のブドウ糖検出用インキ組成物の中では、前述のように、ブドウ糖の酸化によって生成された過酸化水素を酸化して発生期の酸素を生成する役割を果たす。ペルオキシダーゼは、グルコースオキシダーゼと同様に、精製された凍結乾燥品が用いられ、力価が100 unit/mgの場合は、インキ組成物の固形分に対して0.02～1重量%、好ましくは0.02～0.5重量%の含有量が望ましい。

【0020】被酸化性指示薬は、前述のように、ペルオキシダーゼにより生成した発生期の酸素と反応して発色し、その発色の程度により体液中のブドウ糖の量を判定するものである。被酸化性指示薬としては、グアヤク脂、オートリジン、ベンジジン類、N-アルキル化ベンジジン類、ナフトール誘導体等が使用できるが、本発明においてはグアヤク脂が好適であった。ブドウ糖検出用インキ組成物中の含有量は、1～3重量%であり、好ましくは1.5重量%程度である。後述するように、特に、ブドウ糖検出用インキ組成物の水溶性ポリマーとして、低分子量のポリビニルピロリドンと高分子量のポリビニルピロリドンの混合物を使用した場合は、グアヤク脂の含有量を1.5重量%程度にすることにより、高濃度のブドウ糖溶液（100～500 mg/dlの範囲）に対して、濃度に応じた階調性のよい発色が得られた。

【0021】水溶性ポリマーは、ブドウ糖検出用インキ組成物の結合剤として使用されるが、結合剤としては、ポリエステル、アルキッド樹脂、ポリスチレン、アクリル樹脂、エポキシ樹脂、ポリ塩化ビニル（共重合体も含む）等の非水溶性樹脂、又はポリビニルアルコール（以下PVAとする）、ポリビニルピロリドン（以下PVPとする）等の水溶性ポリマー、メチルセルロース、エチ

ルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース等のセルロース誘導体、澱粉、多糖類、ゼラチン、カゼイン等の天然高分子、等が使用される。

【0022】本発明においては、結合剤として用いられる水溶性ポリマーは、グルコースオキシダーゼやペルオキシダーゼ等の酵素の直接又は間接的な安定化剤として作用し、ブドウ糖検出用インキ組成物を支持体に塗布して作製したブドウ糖検出用検査体（以下単にブドウ糖検査体とする）を、無酸素状態で室温に保存したとき、酵素の失活（力価低下）を防止する。また、水溶性ポリマーは保存中の被酸化性指示薬の劣化の防止にも役立つ。そのため、水溶性ポリマーを選定することにより、ブドウ糖検査体の保存期間を延長させることができる。

【0023】以上のことから、水溶性ポリマーとして、以下に示すように、低分子量のPVP（ポリビニルピロリドン）と高分子量のPVPの混合物を選定することにより、従来、無酸素状態で室温に保存したとき、その有効期間は9ヵ月であったが、1.5年に延長することができた。また、低分子量のPVPと高分子量のPVPの混合物を使用することにより、ブドウ糖検査体は、ブドウ糖濃度に応じて階調性のよい呈色を示すようになった。特に、高濃度（100～500 mg/dl）における階調性がよくなり、低濃度から中、高濃度まで、一枚のブドウ糖検査体で測定が可能になった。従来のブドウ糖検査体では、100 mg/dl以上の高濃度では、階調性のある呈色は得られず、その測定範囲は0～100 mg/dlが限度であった。

【0024】更に、水溶性ポリマーとして用いられる低分子量のPVPは、その重量平均分子量が1,000～5,000と非常に低分子量のものが有効である。特に、3,000程度の分子量のものが好適である。また、高分子量のPVPは、重量平均分子量が1,000,000～1,300,000である従来のPVPが使用される。低分子量のPVPと高分子量のPVPの混合割合は、低分子量のPVPが30～50重量%、高分子量のPVPが50～70重量%の範囲で使用されるが、より好ましくは、重量平均分子量が3,000のPVPと重量平均分子量が1,100,000のPVPをその混合割合を5対7にしたものがよい。更に、PVPの混合物のブドウ糖検出用インキ組成物中の含有量は、3～7重量%で使用されるが、好ましくは、5～6重量%の範囲である。

【0025】保水性担体は、ブドウ糖検出用インキ組成物を支持体に塗布してブドウ糖検査体とし、そのブドウ糖検査体を測定対象の被検液と接触したとき、支持体上に形成された試薬組成物の吸水性をよくし、被検液と試薬組成物の接触を助け、指示薬の呈色反応を安定化する役割を果たすものである。従って、このような作用をする保水性担体としては、水（又は被検液）と接触したと

き、酸性又はアルカリ性を示さず、又、酵素や被酸化性指示薬に悪影響を及ぼさず、しかも白色度の高いものが好ましい。このようなものとしては、カオリン、合成シリカ、ガラス、セルロース、微結晶セルロース、炭酸カルシウム、炭酸マグネシウム、珪酸アルミニウム、イオン交換樹脂、カルボキシメチルセルロースのカルシウム塩、ヒドロキシプロピルセルロース等の粉末が使用される。

【0026】本発明においては、特に、カルボキシメチルセルロースのカルシウム塩（以下CMC-Caとする）が好適であった。保水性担体としてCMC-Caを用いたブドウ糖検査体は、被検液と接触したとき、試薬組成物と水との親和性がよくなり、試薬組成物中への被検液の取り込みがスムーズで、呈色が安定し、呈色の階調性も向上した。ブドウ糖検出用インキ組成物中のCMC-Caの含有量は、5～15重量%の範囲で使用され、好ましくは10重量%程度である。

【0027】ブドウ糖検出用インキ組成物としては、上記成分の他に、PH緩衝剤、界面活性剤、溶媒、その他成分等が加えられる。PH緩衝剤はインキ組成物のPHを安定させるためのもので、本発明においては、クエン酸-クエン酸ナトリウムの緩衝剤を用いた。また、界面活性剤はインキ組成物の湿潤剤として使用されるもの

ブドウ糖検査用インキ組成物(A)

(1) 被酸化性指示薬(グアヤク脂)	1.6重量%
(2) 水溶性ポリマー (分子量3千と110万のPVPが5対7で混合)	5.5重量%
(3) 保水性担体(CMC-Ca)	10.0重量%
(4) ブドウ糖酸化酵素	0.8重量%
(5) ヘルオキシダーゼ	0.4重量%
(6) PH緩衝剤(クエン酸-クエン酸Na)	2.8重量%
(7) 非水溶性ポリマー	0.0
(8) 界面活性剤(span 20)	1.0重量%
(9) 溶媒(ヘキサノール、ブチルセルソルブ)	46.4重量%
(10) その他	31.5重量%
(粉体としてヒドロキシプロピルセルロース6.3重量%、結晶性セルロース25.2重量%を含む)	

【0031】上記ブドウ糖検査体1を用いて、既知量のブドウ糖を含有する尿に浸漬して、ブドウ糖濃度に対する検査体の呈色状態を測定した。ブドウ糖を含有する尿に浸漬した上記ブドウ糖検査体1は、ブドウ糖濃度に応じて淡い青色から濃い青色に呈色した。この青色に呈色したブドウ糖検査体1の呈色濃度を反射濃度計(大日本印刷(株)製「DNPリーダー」)を用いて、JIS Z8120に準拠して、波長610nmにおける反射濃度(OD)を測定し、ブドウ糖濃度(対数目盛り)に対して、ブドウ糖検査体1の反射濃度(OD)をプロットした結果、図3に示すように、ブドウ糖濃度5～500mg/dlの範囲で直線的に反射濃度(OD)が変化した。

で、各種界面活性剤が使用できるが、本発明においては非イオン性の界面活性剤(花王(株)製「レオドールSP-L10(span 20)」)を用いた。

【0028】また、溶媒としては、非水溶性溶媒が使用され、ベンゼン、トルエン、メチルエチルケトン、酢酸エチル、ブタノール、ヘキサノール、ブチルセルソルブアセテート等の各種溶剤が使用できるが、本発明においては、ヘキサノール、ブチルセルソルブアセテートの混合溶剤を使用した。その他の成分として、保形性を良くするために、ヒドロキシプロピルセルロース、結晶性セルロースを使用した。

【0029】

【実施例】以下に、実施例に基づいて、本発明を詳しく説明する。

(実施例1) 図2に示すように、検査薬の支持体3として、厚さ300μmの白色ポリスチレンシートを用い、この上に、下記組成のインキを用いて、スクリーン印刷方式で、5mm角の四角形を印刷して、ブドウ糖検出部2を形成した。得られた印刷物4を、70℃40秒乾燥後、スティック状に断裁して、図1に示すように、ブドウ糖検査体1とした。

【0030】

【0032】即ち、図3は、ブドウ糖含有量として、5、10、20、50、100、200、300、500mg/dlを含有する各濃度の尿に対して、別々に作成したブドウ糖検査体の5検査体を浸漬し、呈色した検査体の反射濃度(OD)を測定し、その反射濃度(OD)の5検査体の平均値をブドウ糖濃度に対してプロットし、同時に5検査体の反射濃度(OD)のバラツキ範囲を示したものである。その結果、図3に示すように、本発明のブドウ糖検査体の呈色状態は、尿中のブドウ糖濃度5～500mg/dlの範囲で、直線的に変化し、再現性も非常によいことが確認された。

【0033】また、上記ブドウ糖検査体の呈色状態から尿中のブドウ糖濃度を迅速に測定するために、標準色と

の比色により測定する方法を採用した。先ず、標準色となる標準比色板を以下のように作成した。ブドウ糖の各濃度で呈色した上記検査体の呈色状態を写真に取り、この写真の色に基づいて、厚さ300 μ mの白色のポリスチレン板に、ブドウ糖の各濃度で呈色した検査体と同じ色を印刷した。印刷したポリスチレン板の反射濃度(OD)を測定し、前述のように、尿中のブドウ糖濃度に対してプロットする。

【0034】更に、印刷板の反射濃度とブドウ糖濃度が完全に比例関係になるようにするために、ポリスチレン板の印刷濃度を変えたものを種々作成し、前記と同様に反射濃度を測定して図4に示すようにプロットする。これらの印刷板の中から反射濃度(OD)がブドウ糖濃度と比例関係にあるもの(反射濃度が直線上にプロットされて●印のもの)を選定して、各濃度(5、10、20、50、100、200、300、500mg/dl)における標準比色板とする。更に、この標準比色板の中間色の比色板を印刷により各種作成して、その反射濃度を測定し、前記と同様に、図4における各ブドウ糖濃度に対応する比色板を選定し、そのブドウ糖濃度における比色板とする。

【0035】上記標準比色板の反射濃度(OD)を測定したときのOD値を10倍して、標準比色板の各ブドウ糖濃度に対する標準比色番号とし、これをブドウ糖濃度に対してプロットすると図5に示すようになる。以上のようにして作成した標準比色板の標準比色番号とブドウ糖濃度を対比して示すと、表1のようになる。以下、本発明によるブドウ糖検査体を用いて、尿中のブドウ糖濃度を比色により測定するときは、反射濃度を標準比色番号で表示することにした。

【0036】

【表1】

尿中のブドウ糖濃度 (mg/dl)	実施例1における検査体の呈色後の反射濃度 (数字は標準比色番号)		
	製造初期	室温1月保存後	40℃75%RH 1月保存後
15	5.5	5.5	5.5
50	9.5	9.5	9.5
100	11.5	11.5	11.5
200	14.0	14.0	14.0
300	15.0	15.0	15.0
500	17.0	17.0	17.0

【0039】(実施例2) 実施例1で作成したブドウ糖検査体1を用いて、咀嚼能試験後の唾液中のブドウ糖濃度を以下のようにして測定した。咀嚼能検査用組成物にブドウ糖を既知量添加し、その咀嚼能検査用組成物4gを被験者に与えて、これを20回咀嚼させ(咀嚼速度1

尿中のブドウ糖濃度 (mg/dl)	標準比色番号
5	2.0
10	4.5
15	5.5
20	6.5
30	7.5
40	8.5
50	9.5
100	11.5
200	14.0
300	15.0
400	16.0
500	17.0

【0037】上記ブドウ糖検査体を、室温に1ヵ月と40℃、75%RHで1ヵ月保存後に、前述と同様に、尿中に浸漬して呈色し、その呈色濃度を測定した。測定結果は表2に示すとおりである。比較のため、前述の製造初期の検査体の測定結果も一緒に表2に示した。呈色濃度は上記標準比色番号で表示した。表2から分かるように、室温に1ヵ月と40℃、75%RHで1ヵ月保存後でも、検査体の呈色状態は製造初期の検査体と全く変わらなかった。即ち、保存期間中にブドウ糖検査体の試薬組成物は劣化や失活が生じず、初期の性能を維持したことを示すものである。

【0038】

【表2】

0回/8秒)、咀嚼終了後、咀嚼能検査用組成物と唾液を紙カップ中に吐き出させ、更に10mlの精製水で口を漱がせ、これを前記紙カップ中に吐き出させて、咀嚼能検査用組成物や唾液と一緒にする。この混合液の中に、実施例1で作成したブドウ糖検査体1を浸漬して呈

色させ、3秒後に取り出し、余分な唾液や咀嚼能検査用組成物を拭き取り、青色に呈色したブドウ糖検査体を、前記標準比色板と比較して、唾液中に移行したブドウ糖濃度を算出した。また、実施例1で作成したブドウ糖検査体を無酸素状態で、室温と40℃、75%RHの条件で7月間保存したブドウ糖検査体を用いて、前記と同様の試験を行った。

【0040】試験結果は表3に示すとおりである。表3の結果から分かるように、本発明のブドウ糖検査体は、咀嚼試験用検査液に対しても、ブドウ糖濃度に対応して呈色濃度が変化し、咀嚼試験用にも利用できることが分かった。また、本発明のブドウ糖検査体は、室温で7ヵ月保存した後でも、呈色状態は良好で、その性能に変化がないことが分かった。更に、40℃、75%RHの条

件で7ヵ月保存した場合でも、ブドウ糖濃度5～200mg/dlの範囲では、呈色状態は良好であった。しかし、ブドウ糖の高濃度範囲(300～500mg/dl)に対しては、その呈色濃度が初期のものより低下し、その性能が僅かに低下していることが分かった。40℃、75%RHの条件で保存した場合、室温保存の約3倍に相当すると言われており、40℃、75%RH、7ヵ月保存は、室温保存の約21ヵ月(1年9ヵ月)に相当する。従って、本発明のブドウ糖検査体は、無酸素状態で室温に保存すれば、少なくとも1.5年間はその性能を低下させることなく保存できることが予測できる。

【0041】

【表3】

尿中のブドウ糖濃度 (mg/dl)	実施例2における検査体の呈色後の反射濃度 (数字は標準比色番号)		
	製造初期	室温7月保存後	40℃75%RH 7月保存後
15	5.0	5.0	5.0
50	9.0	9.0	9.0
100	11.0	11.0	11.0
200	13.0	13.0	13.0
300	14.5	14.5	14.0
500	16.0	16.0	15.0

【0042】(比較例) 比較例として、水溶性ポリマーとして低分子量のPVPを用いないもの、吸水性粉体としてCMC-Caを使用しないもの、又は被酸化性指示薬としてグアヤク脂の量を少なくしたもの、等のインキ組成物を作成して、実施例1と同様に、ブドウ糖検査体

を作成した。

【0043】(比較例1) 下記組成のインキを使用して、実施例1と同様に、ブドウ糖検出用検査体を作成した。

ブドウ糖検出用インキ組成物(B)

(1) 被酸化性指示薬(グアヤク脂)	1.0 重量%
(2) 水溶性ポリマー(分子量110万のPVP)	2.6 重量%
(3) 保水性担体(CMC-Ca)	0.0
(4) ブドウ糖酸化酵素(GOD)	0.8 重量%
(5) ペルオキシダーゼ(POD)	0.4 重量%
(6) PH緩衝剤(クエン酸-グエン酸Na)	2.8 重量%
(7) 非水溶性ポリマー	0.5 重量%
(8) 界面活性剤(span20)	1.0 重量%
(9) 溶媒(ヘキサノール、酢酸ブチル)	59.4 重量%
(10) その他	31.4 重量%
(粉体としてヒドロキシプロピルセルロース6.3重量%、結晶性セルロース25.1重量%を含む)	

【0044】(比較例2) 下記組成のインキを使用して、実施例1と同様に、ブドウ糖検出用検査体を作成し

ブドウ糖検出用インキ組成物(C)

(1) 被酸化性指示薬(グアヤク脂)	1.6 重量%
(2) 水溶性ポリマー(分子量110万のPVP)	2.7 重量%

(3) 保水性担体 (CMC-Ca)	0.0
(4) ブドウ糖酸化酵素	0.8重量%
(5) ヘルオキシダーゼ	0.4重量%
(6) PH緩衝剤 (クエン酸-クエン酸Na)	2.8重量%
(7) 非水溶性ポリマー	0.5
(8) 界面活性剤 (span 20)	1.0重量%
(9) 溶媒 (ヘキサノール、酢酸ブチル)	48.9重量%
(10) その他	41.3重量%
(粉体としてヒドロキシプロピルセルロース8.3重量%、結晶性セルロース33.0重量%を含む)	

【0045】(比較例3) 下記組成のインキを使用し た。
て、実施例1と同様に、ブドウ糖検出用検査体を作成し

ブドウ糖検出用インキ組成物(D)

(1) 被酸化性指示薬 (グアヤク脂)	1.6 重量%
(2) 水溶性ポリマー (分子量3千と110万のPVPが5対7で混合)	5.5 重量%
(3) 保水性担体	0.0
(4) ブドウ糖酸化酵素	0.8 重量%
(5) ヘルオキシダーゼ	0.4 重量%
(6) PH緩衝剤 (クエン酸-クエン酸Na)	2.8 重量%
(7) 非水溶性ポリマー	0.0
(8) 界面活性剤 (span 20)	1.00重量%
(9) 溶媒 (ヘキサノール、酢酸ブチル)	46.6重量%
(10) その他	41.3重量%
(粉体としてヒドロキシプロピルセルロース8.3重量%、結晶性セルロース33.0重量%を含む)	

【0046】比較例で作成したブドウ糖検査体を、実施例1と同様に、既知量のブドウ糖を含有する尿に浸漬して、ブドウ糖濃度に対する検査体の呈色状態を測定した。また、比較例で作成したブドウ糖検査体を、実施例1と同様に、室温及び40℃、75%RHで1ヵ月保存後に、尿中に浸漬して呈色し、その濃度を測定した。結果は表4に示すとおりである。表4から分かるように、比較例1で作成したブドウ糖検査体は、ブドウ糖濃度0~100mg/dlの範囲は、ある程度の階調性のよい呈色を示すが、100mg/dl以上では、検査体の青色濃度が殆ど変わらず、100mg/dl以上の濃度は測定不可能であった。また、比較例1で作成したブドウ糖検査体は、保存中に劣化して、呈色濃度が低下した。

【0047】比較例1は従来のブドウ糖検出用インキ組成物と同じものであるが、実施例1と比較して、被酸化性指示薬のグアヤク脂の量が少ないこと、水溶性ポリマーとして高分子量のPVPだけで低分子量のPVPが入っていないこと、保水性担体としてCMC-Caが含有していないこと、である。本発明のブドウ糖検出用インキ組成物は、実施例1に示されるように、被酸化性指示薬としてグアヤク脂の量を約1.5倍に増やし、水溶性ポリマーとして低分子量のPVPを加え、更に保水性担体としてCMC-Caを加えて、従来のインキ組成物を改良することにより、ブドウ糖検査体の性能は大幅

に改良することができた。即ち、従来の検査体では測定不可能であった100~500mg/dlの範囲も、一枚の検査体で、測定が可能となった。また、保存中の劣化が少なく、40℃、75%RHで1ヵ月保存しても、製造初期のものと全く同じ呈色を示した。

【0048】比較例2は、実施例1に比較して、水溶性ポリマーとして高分子量のPVPだけで低分子量のPVPが入っていないこと、保水性担体としてCMC-Caが含有していないこと、である。そして、比較例2で作成したブドウ糖検査体は、実施例のものに比較して、保存性がよくないことである。実施例1と比較例2を比較して分かるように、水溶性ポリマーとして高分子量のPVPの他に低分子量のPVPを加え、また、保水性担体としてCMC-Caを加えることにより、ブドウ糖検査体の保存性を高めることができた。

【0049】比較例3は、実施例1に比較して、保水性担体としてCMC-Caが含有していないこと、である。比較例3の場合は、表3に示されるように、ブドウ糖濃度100~500mg/dlの範囲も測定可能であり、保存性も悪くない結果となっているが、呈色状態にムラがあり、安定性のよい呈色が得られなかった。以上のことから、保水性担体としてCMC-Caを加えることにより、呈色が安定することが分かった。

【0050】

【表4】

尿中のブドウ糖濃度 (mg/dl)		比較例における検査体の呈色後の反射濃度 (数字は標準比色表番号)		
		製造初期	室温 1 月保存後	40℃75%RH 1 月保存後
比較例 1	15	5.0	5.0	3.0
	50	8.0	7.0	4.0
	100	10.0	8.0	5.0
	200	10.0	8.0	6.5
	300	10.0	8.0	6.0
	500	10.0	8.0	6.0
比較例 2	15	5.0	4.0	4.0
	50	9.0	8.0	7.5
	100	11.0	10.0	8.5
	200	12.0	10.0	8.5
	300	13.0	10.0	8.5
	500	13.5	10.0	8.5
比較例 3	15	5.0	5.0	5.0
	50	9.0	8.5	8.0
	100	11.0	10.0	10.0
	200	13.0	13.0	14.0
	300	15.0	14.0	14.5
	500	16.0	15.0	15.0

注) 比較例3では、呈色ムラが多く呈色の安定性がよくない。

【0051】(比較例4) 比較例3で作成したブドウ糖検査体1を用いて、実施例2と同様に、咀嚼能試験後の唾液中のブドウ糖濃度を測定した。また、比較例3で作成したブドウ糖検査体を無酸素状態で、室温と40℃、75%RHの条件で7月間保存したブドウ糖検査体を用いて、実施例2と同様に、咀嚼能試験後の唾液中のブドウ糖濃度を測定した。

【0052】試験結果は表5に示すとおりである。表5の結果から分かるように、保水性担体としてCMC-C

aが含有していないブドウ糖検査体は、室温で7ヵ月保存したものは、呈色状態に大きな差はなく、初期の性能を保持するが、40℃、75%RHの条件で7ヵ月保存した場合は、ブドウ糖の高濃度範囲(300~500mg/dl)に対しては、その呈色濃度が初期のものよりかなり低下し、長期保存ができないことが分かった。

【0053】

【表5】

尿中のブドウ糖濃度 (mg/dl)	比較例4における検査体の呈色後の反射濃度 [数字は標準比色番号]		
	製造初期	室温7月保存後	40℃75%RH 7月保存後
15	5.0	5.0	5.0
50	9.0	9.0	9.0
100	11.0	11.0	11.0
200	13.0	13.0	12.0
300	14.5	14.5	12.0
500	16.0	16.0	12.0

【0054】

【発明の効果】本発明のブドウ糖検出用インキ組成物を用いて作成したブドウ糖検査体は、従来は測定が非常に困難とされていた高濃度の範囲(100～500mg/dl)も、測定可能となり、一枚の検査体で、迅速且つ簡単に低濃度(5～100mg/dl)から中、高濃度まで測定することができる。また、本発明のブドウ糖検査体は、咀嚼能検査組成物を咀嚼後、唾液に移行したブドウ糖濃度も測定することができ、各種のブドウ糖濃度の検査体として利用可能であることが期待できる。本発明のブドウ糖検査体は、尿やその他の検査液と接触して呈色したものは安定で変色しないので、測定時間を厳守する必要がなくなり、測定作業が非常に簡単になる。更に、保存中の劣化が少なく、無酸素状態で室温保存の場合は、その有効期間を1.5年に延長することができる。そのため、大量生産が可能となり、コスト低減を図ることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】ブドウ糖検出部を形成したブドウ糖検査体の模式平面図である。

【図2】本発明のブドウ糖検出用インキを用いて印刷により、支持体にブドウ糖検出部を形成したときの印刷物の平面図である。

【図3】本発明のブドウ糖検査体を用いて、尿中の既知濃度のブドウ糖を測定したときの、ブドウ糖濃度と検査体の反射濃度(OD)の関係を示した図である。

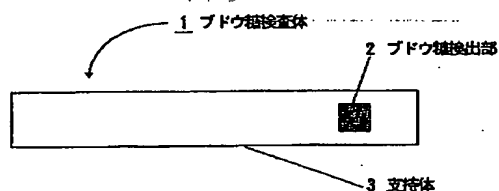
【図4】尿中の各種ブドウ糖濃度に対する標準比色板を作成するときの説明図で、各種ブドウ糖濃度に対して標準比色板の反射濃度をプロットした図である。

【図5】尿中の各種ブドウ糖濃度に対する標準比色板の反射濃度(OD)及び標準比色番号を示した図である。

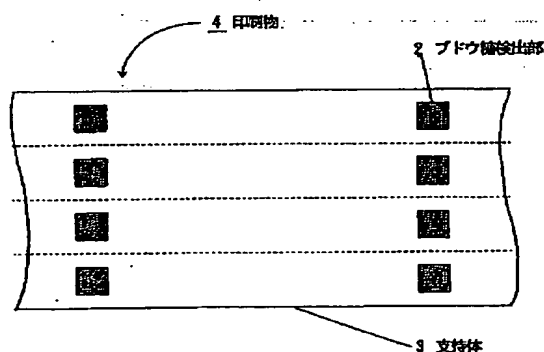
【符号の説明】

- 1 ブドウ糖検査体
- 2 ブドウ糖検出部
- 3 支持体
- 4 印刷物

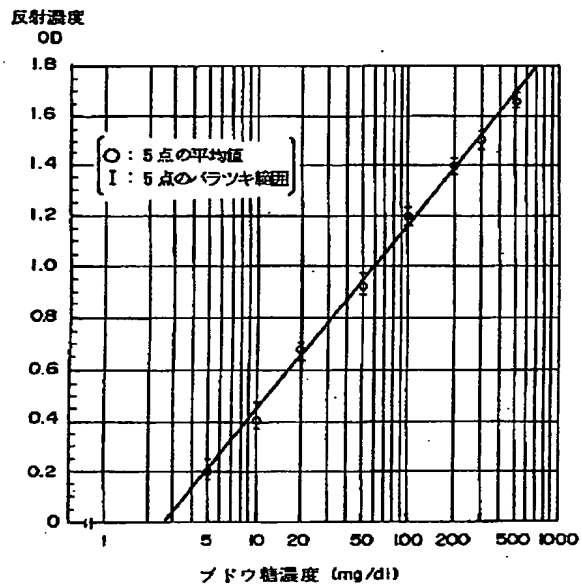
【図1】



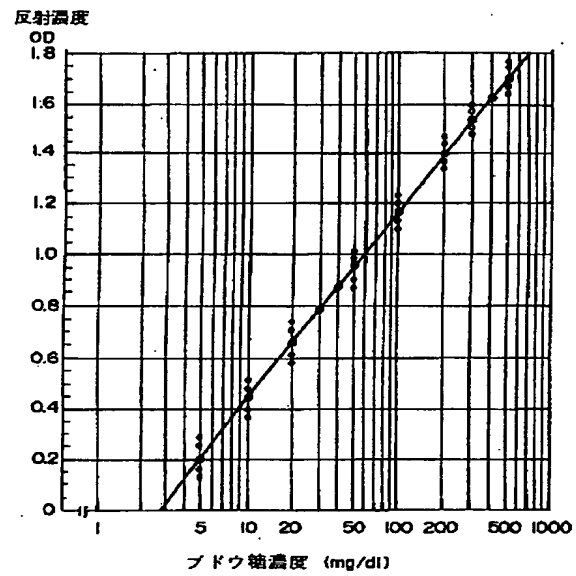
【図2】



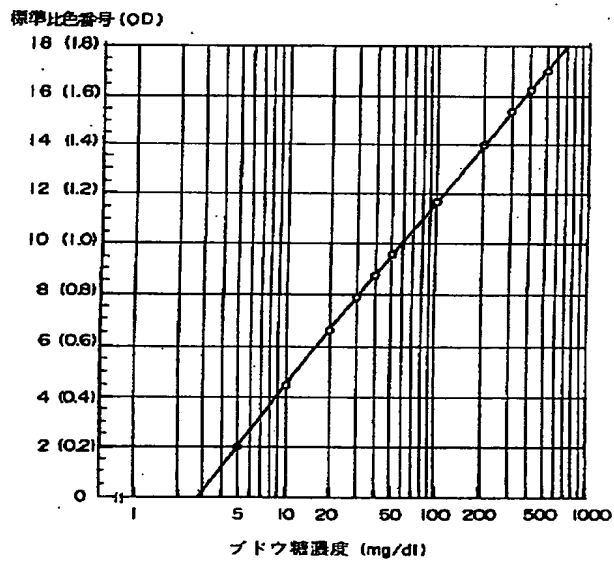
【図3】



【図4】



【図5】



This Page is inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLORED OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images
problems checked, please do not report the
problems to the IFW Image Problem Mailbox**